

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz
(Komm. Direktor : Prof. Dr.E. Muscholl)

ÜBER DEN EINFLUSS VON PROPRANOLOL AUF
DIE POSITIV INOTROPE WIRKUNG VON
THEOPHYLLIN UND ADRENALIN AM KATZENPAPILLARMUSKEL

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Wolfgang Kasper
aus Wörrstadt

Mainz 1974

1975

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz
(Komm. Direktor : Prof. Dr.E. Muscholl)

ÜBER DEN EINFLUSS VON PROPRANOLOL AUF
DIE POSITIV INOTROPE WIRKUNG VON
THEOPHYLLIN UND ADRENALIN AM KATZENPAPILLARMUSKEL



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Wolfgang Kasper
aus Wörrstadt

Mainz 1974



Fachbereichsdekan: Prof. Dr. P. Klein
Referent: Prof. Dr. H. Scholz
Korreferent: Prof. Dr. R. Krebs
Tag der mündl. Prüfung: 18.11.1975

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

T	: Theophyllin
A	: Adrenalin
Pr	: Propranolol
M, mM	: molar (= mol/l), millimolar
kg, g, mg	: Kilogramm, Gramm, Milligramm
cm, mm	: Zentimeter, Millimeter
min, sec, msec	: Minuten, Sekunden, Millisekunden
l, ml	: Liter, Milliliter
Hz	: Hertz = Impulse pro Sekunde
re Ve	: rechter Ventrikel
FG	: Feuchtgewicht
TG	: Trockengewicht
MG	: Molekulargewicht
SR	: sarcoplasmatisches Retikulum

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Methode</u>	
2.1 Präparate, Präparation, Mechanogramme und Badlösungen	3
2.2 Erstellung der Konzentrationswirkungskurve	5
2.3 Substanzen	8
2.4 Auswertung	8
2.5 Statistische Bearbeitung	12
2.5.1 Statistische Analyse	12
2.5.2 Datenbeschreibung	12
3. <u>Ergebnisse</u>	
3.1 Charakterisierung der Adrenalinwirkung sowie der Wirkung von Propranolol auf den Adrenalineffekt	14
3.2 Charakterisierung der Theophyllinwirkung sowie der Wirkung von Propranolol auf den Theophyllineffekt	22
4. <u>Diskussion</u>	
4.1 Vergleich der Wirkungen von Adrenalin und Theophyllin	24
4.2 Einfluß von Propranolol auf die Adrenalin- und Theophyllinwirkung	24
4.3 Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Adrenalin und Theophyllin	26
5. <u>Zusammenfassung</u>	29
6. <u>Literaturverzeichnis</u>	30
Lebenslauf	

1. Einleitung

Adrenalin und Theophyllin wirken beide positiv inotrop. Ihr genauer Wirkungsmechanismus ist letztlich noch unbekannt. Ähnlichkeiten in ihren Effekten werfen die Frage auf, ob die Theophyllinwirkung nicht ganz oder teilweise auf einer Freisetzung von Katecholaminen aus endogenen Speichern beruht (de Gubareff and Sleator, 1965; Westphal and Fleming, 1968; Strubelt, 1969; Marcus et al., 1972). So setzt die positiv inotrope Wirkung nicht nur von Adrenalin, sondern auch von Theophyllin an isolierten Herzmuskelpräparaten sofort nach Substanzzugabe ein. Der positiv inotrope Effekt ist sowohl für Adrenalin (Reiter und Schöber, 1965) als auch für Theophyllin (Scholz und de Yazikof, 1971) unabhängig von Änderungen der extrazellulären Na^+ - und K^+ - Konzentration. Bei Steigerung der extrazellulären Ca^{++} - Konzentration kommt es bei beiden Substanzen zu einer Verschiebung der Konzentrationswirkungskurve nach links (Reiter und Schöber, 1965; Scholz und de Yazikof, 1971). Mn^{++} - Ionen, die den Ca^{++} - Einstrom während des Erregungsprozesses hemmen (Rougier et al., 1969), mindern in gleicher Weise die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin wie auch von Theophyllin (Meinertz und Scholz, 1969), und schließlich wird der Ca^{++} - Influx und der Ca^{++} - Efflux sowohl durch Katecholamine (Reuter, 1965; Grossmann and Furchgott, 1964; Reuter und Wollert, 1967) als auch durch Methylxanthine (Nayler, 1963; Guthrie and Nayler, 1967; Scholz, 1971) während der Erregung gesteigert.

Um die Frage zu klären, ob die kontraktionskraftsteigernde Wirkung der Methylxanthine teilweise auf einer Katecholaminfreisetzung beruht, wurde mehrfach untersucht, ob dieser Effekt durch Beta-Rezeptorenblocker oder durch Reserpinvorbehandlung zu beeinflussen ist. Die Literaturbefunde sind jedoch uneinheitlich. Marcus et al. (1972) fanden, daß durch Propranolol die Konzentrationswirkungskurve von Theophyllin an Katzenpapillarmuskeln nach rechts verschoben wurde und daß die Vorbehandlung mit Reserpin die positiv inotrope Theophyllinwirkung ebenfalls minderte. Beide Effekte wurden von den Autoren als Hinweis für die indirekte Natur der Theophyllinwirkung angesehen. Auch de Gubareff und Sleator (1965) diskutierten, ob nicht ein Teil der Coffeinwirkung am Meerschweinchenvorhof auf einer Entleerung endogener Katecholaminspeicher beruhe, da sie bei Konzentrationen von $0,5 \times 10^{-3}$ bzw. $1,5 \times 10^{-3}$ M Coffein eine Minderung des

positiv inotropen Effektes um 16,7 % bzw. 24,3 % an reserpinisierten Vorhöfen gegenüber Vorhöfen unbehandelter Tiere feststellen konnten. Schließlich fanden Westphal und Fleming (1968) bzw. Strubelt (1969), daß der positiv chronotrope Effekt von Methylxanthinen an Hundeherzen bzw. Rattenvorhöfen in vivo in Anwesenheit von Propranolol und nach Reserpinvorbehandlung reduziert war. Keinen Einfluß von Beta-Blockern und Reserpin auf den positiv inotropen und chronotropen Effekt von Methylxanthinen fanden dagegen andere Autoren (Moran and Perkins, 1958; Kukovetz und Pösch, 1967; Scholz und de Yazikof, 1971; Blinks et al., 1972).

Angesichts dieser Widersprüche erschien es zweckmäßig, den Einfluß von Propranolol auf die Theophyllinwirkung unter möglichst standardisierten Bedingungen erneut zu prüfen und auch andere Parameter der Kontraktion mit einzubeziehen. Deshalb wurde in der hier vorliegenden Arbeit in größeren Versuchsserien an Katzenpapillarmuskeln untersucht, ob Propranolol den Theophyllineffekt beeinflußt. Als Test für die Versuchsaapparatur und die Versuchsbedingungen wurde zum Vergleich auch der Einfluß von Propranolol auf die Wirkung von Adrenalin geprüft. Es wurde davon ausgegangen, daß die Wirkung nicht nur von Adrenalin, sondern auch von Theophyllin durch Propranolol abgeschwächt werden müßte, wenn die Theophyllinwirkung indirekter Natur ist und ganz oder teilweise auf einer Freisetzung von endogenen Katecholaminen beruht.

2. Methode

2.1 Präparate, Präparation, Mechanogramme und Badlösungen

Die Versuche wurden an Papillarmuskeln aus dem rechten Ventrikel von Katzen durchgeführt. Das mittlere Körpergewicht der Versuchstiere lag bei 1100 g (Tab. 1). Die Tiere wurden durch eine intraperitoneale Injektion von 25 mg/kg Körpergewicht Nembutal^R betäubt. Nach Erlöschen des Konjunktivalreflexes, im Durchschnitt nach 10 min, wurden nach Thorakotomie beidseits die Karotiden eröffnet und die Trachea durchtrennt.

Die noch schlagenden Herzen wurden möglichst schnell dem Thorax entnommen.

Die weitere Präparation erfolgte in einer Petrischale, die mit carbogen-äquilibrierter Tyrodelösung von Zimmertemperatur gefüllt war. Nach Entfernung des Herzbeutels wurden die Vorhöfe an der Herzbasis abgetrennt, der rechte Ventrikel durch einen Schnitt im Sulcus interventricularis posterior eröffnet und die Papillarmuskeln mit belassenen Chordae tendineae entnommen.

Es fanden nur dünne Papillarmuskeln von weniger als 1,1 mm Durchmesser Verwendung. Die durchschnittliche Querschnittsfläche lag in 80 Versuchen bei $0,66 \text{ mm}^2$ (Tab. 1); unter diesen Bedingungen ist eine ausreichende Sauerstoffdiffusion in das Innere der Papillarmuskeln gewährleistet (Koch-Weser, 1963).

Die isolierten Präparate wurden mit Seidenfäden zwischen zwei Platinelektroden befestigt und in Organbädern suspendiert, die jeweils 50 ml carbogen-äquilibrierte Tyrodelösung enthielten.

Die Badlösungen konnten innerhalb von 1 - 2 Sekunden ausgewechselt werden. Die Muskeln wurden zunächst mit 500 mg vorgespannt und ohne elektrische Reizung für 10 min in der Tyrodelösung belassen. Danach wurden die Papillarmuskeln elektrisch gereizt und die Vorspannung so lange gesteigert bis es zu keiner nennenswerten Kraftänderung mehr kam (Gipfel der Längen-Spannungskurve). Im Durchschnitt betrug die diastolische Vorspannung, die sich während des gesamten Versuchsablaufes nicht änderte, bei Versuchsbeginn $1,3 \pm 0,04 \text{ g}$ bzw. $2,1 \pm 0,08 \text{ g/mm}^2$ (Tab. 1). Die elektrische Reizung erfolgte mit Rechteckimpulsen (Grass Reizgerät S 6) mit einer Reizdauer von 5 msec und einer Frequenz von 0,2 Hz. Die Reizstärke betrug nicht mehr als 10 % über der Schwellenstromstärke, um die Entleerung von endogenen Katecholaminspeichern zu verhindern, die bei höheren (supramaximalen) Reizstärken besonders ausgeprägt ist (Whalen, 1958; Sleanor and de Gubareff, 1958; Furchgott et al., 1959).

Serie	Bedingung	N	Tiergewicht g	Feuchtwicht mg	Trockengewicht mg	Querschnittsfläche mm ²	Länge mm	Diastol. Spannung bei Versuchsbeginn g	Diastol. Spannung bei Versuchsbeginn g/mm ²	Systol. Spannung bei Versuchsbeginn g	Systol. Spannung bei Versuchsbeginn g/mm ²
A	ohne Pr	18	1211 ± 66	5,2 ± 0,29	1,2 ± 0,06	0,71 ± 0,05	6,5 ± 0,34	1,443 ± 0,142	2,132 ± 0,181	0,769 ± 0,079	1,034 ± 0,054
	mit Pr	24	889 ± 62	4,5 ± 0,43	0,98 ± 0,11	0,66 ± 0,03	6,2 ± 0,29	1,358 ± 0,065	2,206 ± 0,163	0,662 ± 0,044	1,007 ± 0,041
T	ohne Pr	15	1284 ± 80	4,9 ± 0,22	1,1 ± 0,06	0,56 ± 0,05	7,0 ± 0,47	1,135 ± 0,046	2,278 ± 0,243	0,559 ± 0,066	0,949 ± 0,054
	mit Pr	23	1116 ± 70	5,1 ± 0,43	1,2 ± 0,14	0,67 ± 0,04	6,6 ± 0,26	1,243 ± 0,064	1,924 ± 0,124	0,775 ± 0,075	1,097 ± 0,058
Total	ohne Pr	33	1244 ± 50	5,1 ± 0,19	1,2 ± 0,04	0,64 ± 0,04	6,7 ± 0,28	1,303 ± 0,084	2,199 ± 0,146	0,673 ± 0,055	1,004 ± 0,039
	mit Pr	47	1003 ± 49	4,8 ± 0,30	1,1 ± 0,09	0,67 ± 0,02	6,4 ± 0,19	1,300 ± 0,046	2,065 ± 0,103	0,716 ± 0,043	1,047 ± 0,035
Sämtliche Versuche		80	1101 ± 37	4,9 ± 0,19	1,2 ± 0,06	0,66 ± 0,02	6,6 ± 0,16	1,301 ± 0,043	2,119 ± 0,085	0,698 ± 0,034	1,029 ± 0,026

Körpergewicht der Katzen und Eigenschaften der verwendeten Papillarmuskeln bei vier Versuchsserien
(Reizfrequenz 0,2 Hz; Adrenalin = A; Theophyllin = T; Propanolol = Pr)

Tabelle 1

Die Kontraktionskraft wurde auxotonisch über Dehnungsmeßstreifen (Grass FT 03) auf Direktschreibern (Hellige Helco-Scriptor) bei einem Papiervorschub von 0,1 mm/sec registriert. Die Registrierung der Einzelkontraktionen, an denen auch die Ausmessung der Parameter Kraft, Anstiegszeit, maximale Anstiegsgeschwindigkeit, Erschlaffungszeit und maximale Erschlaffungsgeschwindigkeit vorgenommen wurde, erfolgte bei einem Papiervorschub von 100 mm/sec.

Die schematische Zeichnung in Abbildung 1 zeigt die ausgewerteten Messgrößen, deren Auswertung im einzelnen folgendermaßen vorgenommen wurde:

- a) Kraft (F in g)
- b) Anstiegszeit (t_1 in msec) = Zeit zwischen Beginn und Maximum der Kontraktion.
- c) Erschlaffungszeit (t_2 in msec) = Zeit zwischen Maximum und Ende der Kontraktion.
- d) maximale Anstiegsgeschwindigkeit (T_1 in g/sec) = Steigung der Tangente, die an den steilsten Teil der ansteigenden Kontraktionskurve gelegt ist.
- e) maximale Erschlaffungsgeschwindigkeit (T_2 in g/sec) = Steigung der Tangente, die an den steilsten Teil der abfallenden Kontraktionskurve gelegt ist.

t_1 und t_2 wurden bei 10 % des Kontraktionsmaximums gemessen; dabei entgeht man Ablesefehlern durch die flache Annäherung der Kontraktionskurve an die Grundlinie. Die Meßgrößen F , T_1 und T_2 wurden zusätzlich auf den Muskelquerschnitt bezogen; sie werden also als g/mm² (F) bzw. g/mm² x sec (T_1 und T_2) angegeben.

Als Badlösung diente in allen Versuchen Tyrodelösung folgender Zusammensetzung (Angaben in mM): NaCl 136,9; KCl 5,4; MgCl₂ 1,05; NaH₂PO₄ 0,42; NaHCO₃ 11,9; CaCl₂ 1,8; Glucose 5,5. Zusätzlich wurden pro Liter Tyrodelösung 50 mg Ascorbinsäure zur Stabilisierung des Adrenalins zugesetzt. Ascorbinsäure selbst beeinflusste die Kontraktionskraft nicht. Die Badtemperatur betrug 35° C. Sämtliche Badlösungen wurden mit Carbogen äquilibriert (95 % O₂ und 5 % CO₂). Der pH-Wert der Badlösungen betrug 7,4; er wurde durch die untersuchten Pharmaka nicht beeinflusst.

2.2 Erstellung der Kontraktionswirkungskurven

Die schlagenden Papillarmuskeln äquilibrierten in der Tyrodelösung für 30 min; danach wurde eine Einzelkontraktion registriert, deren Werte für die Versuche ohne Propranolol im folgenden mit K_1 bezeichnet werden. Bei den Versuchen mit Propranolol folgte eine weitere 15-

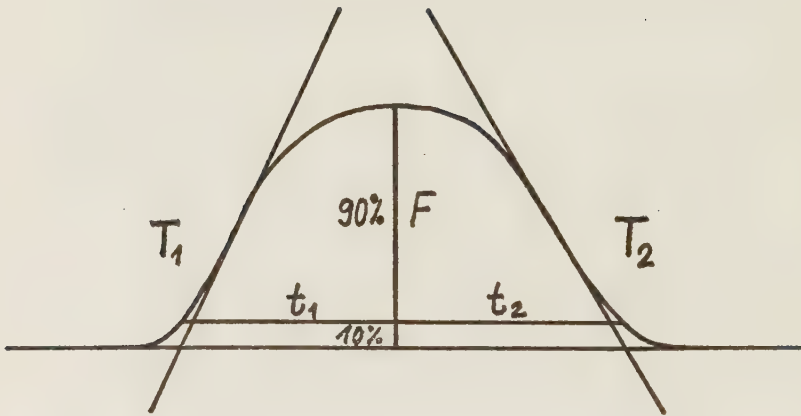


Abb. 1:

Schematische Zeichnung der Kontraktionskurve zur Erläuterung der Meßgrößen.

F = Kraft in g

t_1 = Anstiegszeit in sec

t_2 = Erschlaffungszeit in sec

T_1 = maximale Anstiegsgeschwindigkeit in g/sec

T_2 = maximale Erschlaffungsgeschwindigkeit in g/sec

minütige Äquilibrierungsphase in Gegenwart von 10^{-6} M Propranolol; danach wurde ebenfalls eine Einzelkontraktion aufgenommen, die für die Versuche mit Propranolol im weiteren als K_1 bezeichnet wird. Bei allen Versuchsreihen war unter diesen Äquilibrierungsbedingungen vor Zugabe von Adrenalin und Theophyllin die Ausgangslage konstant. Die anschließende Zugabe von Adrenalin bzw. Theophyllin erfolgte kumulativ, das heißt, die Präparate wurden den Substanzen in aufsteigender Konzentrationsreihe ohne zwischenzeitliches Spülen ausgesetzt. Beim Wechseln von einer Konzentration zur anderen wurde die gesamte Badflüssigkeit ausgetauscht, die vor der Anwendung erwärmt und begast wurde. Die Einwirkzeit für jede Konzentration betrug 15 min. Am Ende jeder dieser Phasen wurde eine Einzelkontraktion geschrieben, die nach den oben angegebenen Kriterien ausgemessen wurde. Nach der jeweils letzten Wirkkonzentration folgte eine Spülphase von 30 min Dauer in substanzfreier Tyrodelösung, in deren Verlauf die Badlösung viermal gewechselt wurde (dreimal zum Zeitpunkt 0, einmal nach 15 min).

Die nach 30 min Spülen gemessene Einzelkontraktion wird im folgenden mit K_2 bezeichnet.

Nach Beendigung der Versuche wurden Länge und Dicke der Papillarmuskeln unter dem Mikroskop ausgemessen. Anschließend wurden die Präparate unter standardisierten Bedingungen (1,5 min zwischen Blaubandfilterpapier; Belastung 280 g) abgepreßt und gewogen (Feuchtgewicht). Danach wurden die Präparate bei 100° C 24 Stunden lang getrocknet und erneut gewogen (Trockengewicht). Die Querschnittsfläche bei runden Papillarmuskeln wurde aus der Dicke nach der Formel πr^2 , bei ovalen Muskeln nach der Formel $\pi a \times b$ berechnet (r = Radius; a = großer Halbdurchmesser; b = kleiner Halbdurchmesser).

Es wurden 4 Versuchsreihen durchgeführt:

1. Adrenalin
2. Adrenalin + Propranolol
3. Theophyllin
4. Theophyllin + Propranolol

Für jede Versuchsserie wurden verschiedene Präparate verwendet. Bei den Versuchsserien 2 und 4 betrug die Konzentration von Propranolol in den Badlösungen während des ganzen Versuches jeweils 10^{-6} M.

2.3 Substanzen

Folgende Substanzen fanden Verwendung:

- a) Theophyllin, MG = 180,2
C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim am Rhein
- b) Adrenalinbitartrat, linksdrehend, MG = 333,4
Farbwerke Hoechst AG
- c) Propranolol - HCl, MG = 295
Rhein Pharma, Heidelberg

Alle in den Tabellen und Abbildungen angegebenen Konzentrationen sind Endkonzentrationen in den Badlösungen. Bei Zugabe wässriger Substanzlösungen machte das zugesetzte Volumen weniger als 1 % der Badlösung aus.

Adrenalin wurde in einer Konzentration von 3×10^{-3} M in Aqua dest. gelöst; durch Zugabe von 1 n - HCl (2 ml/50 ml Lösung) konnte diese Lösung bei einer Temperatur von 0° C mehrere Wochen aufbewahrt werden. Für jeden Versuchstag wurden aus dieser Stammlösung wässrige Verdünnungen hergestellt, die den Badlösungen direkt zugegeben wurden.

Theophyllin wurde an jedem Versuchstag unter Erwärmung auf 50° C in Tyrodelösung gelöst. Die Konzentration der Stammlösung betrug 5×10^{-2} M. Durch Auflösung von 29,5 mg Propranolol in 100 ml Aqua dest. wurde ebenfalls an jedem Versuchstag neu eine Stammlösung von 10^{-3} M gewonnen.

2.4 Auswertung

Die Auswertung der Substanzeffekte erfolgte absolut, zum Beispiel für die Kraft in Gramm pro Fläche (g/mm^2) oder als Zunahme der Kontraktionskraft gegenüber der Kontrolle vor Adrenalin- bzw. Theophyllinzugabe in Δ Gramm pro Fläche ($\Delta \text{ g/mm}^2$).

Um auszuschließen, daß Propranolol einen Einfluß auf den Kontraktionsablauf ausübte, wurden die Kontrollparameter ohne und mit Propranolol verglichen, sowohl im direkten Vergleich am selben Präparat (Tabelle 2), als auch im Vergleich der Kontrollparameter der Serien Adrenalin ohne Propranolol gegen Adrenalin mit Propranolol, wie der Serien Theophyllin ohne Propranolol gegen Theophyllin mit Propranolol (Tabelle 3). Beim Vergleich der Werte in Tabelle 2 und 3 ergaben sich keine Unterschiede, so daß ein Einfluß von Propranolol in einer Konzentration von 10^{-6} M auf den Kontraktionsablauf verneint werden kann. Um auszuschließen, daß Propranolol während der Versuchsdauer

Serie	Bedingung	N	Kraft g/mm ²	Anstiegszeit sec	Max. Anstiegsge- schwindigkeit g/mm sec	Erschlaffungszeit sec	Max. Erschlaffungsge- schwindigkeit g/mm sec
A	ohne Pr	24	1,007 ± 0,04	0,204 ± 0,005	6,453 ± 0,332	0,174 ± 0,006	8,863 ± 0,655
	mit Pr		1,011 ± 0,04	0,204 ± 0,005	6,358 ± 0,284	0,176 ± 0,006	8,429 ± 0,532
T	ohne Pr	23	1,087 ± 0,06	0,191 ± 0,007	7,618 ± 0,398	0,166 ± 0,004	9,390 ± 0,630
	mit Pr		1,099 ± 0,06	0,191 ± 0,007	7,664 ± 0,401	0,172 ± 0,004	9,290 ± 0,560
Total	ohne Pr	47	1,046 ± 0,04	0,197 ± 0,004	7,048 ± 0,272	0,170 ± 0,003	9,132 ± 0,451
	mit Pr		1,055 ± 0,04	0,198 ± 0,004	7,011 ± 0,261	0,174 ± 0,003	8,859 ± 0,387

**Einfluß von Propranolol (Pr; 10⁻⁶ M) auf verschiedene Parameter der isometrischen Kontraktionskurve von elektrisch gereizten Katzenpapillarmuskeln bei den mit Adrenalin und Theophyllin durchgeführten Versuchsserien. Jeweils gleiche Präparate innerhalb der Versuchsserien A und T.
(0,2 Hz; Adrenalin = A; Theophyllin = T)**

Tabelle 2

Serie	Bedingung	N	Kraft $\frac{\text{g}}{\text{mm}^2}$	Anstiegszeit sec	Max. Anstiegs- geschwindigkeit $\frac{\text{g}}{\text{mm}^2} \text{ sec}$	Er schlaffungszeit sec	Max. Erschlaffungs- geschwindigkeit $\frac{\text{g}}{\text{mm}^2} \text{ sec}$
A	1) vor A ohne Pr	18	$1,030 \pm 0,05$	$0,192 \pm 0,007$	$7,266 \pm 0,358$	$0,160 \pm 0,005$	$9,679 \pm 0,763$
	2) vor A mit Pr	24	$1,011 \pm 0,04$	$0,204 \pm 0,005$	$6,358 \pm 0,284$	$0,176 \pm 0,006$	$8,429 \pm 0,532$
T	3) vor T ohne Pr	15	$0,967 \pm 0,06$	$0,170 \pm 0,005$	$7,798 \pm 0,438$	$0,176 \pm 0,008$	$8,251 \pm 0,599$
	4) vor T mit Pr	23	$1,099 \pm 0,06$	$0,191 \pm 0,007$	$7,664 \pm 0,401$	$0,172 \pm 0,004$	$9,290 \pm 0,560$

Tabelle 3
Kontrollwerte vor Zugabe von Adrenalin (A) oder Theophyllin (T) in Abwesenheit oder in Gegenwart von 10^{-6} N Propranolol (Pr) bei elektrisch gereizten Katzenpapillarmuskeln (Reizfrequenz 0,2 Hz).
Jeweils verschiedene Präparate bei Serie 1 - 4.

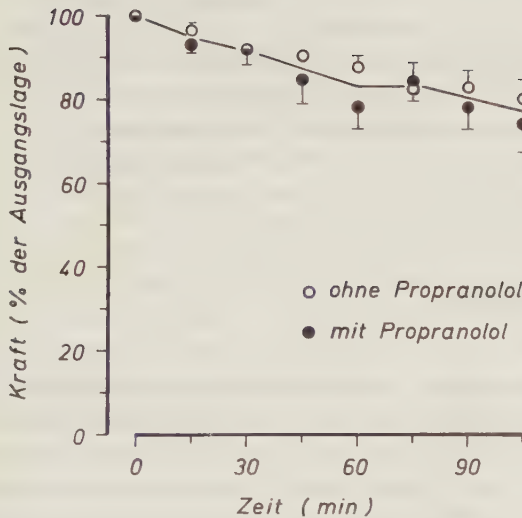


Abb. 2:

Kontraktionskraft elektrisch gereizter Katzenpapillarmuskeln in Abwesenheit (o--o) und in Anwesenheit von Propranolol (10^{-6} M; ●--●) in Abhängigkeit von der Zeit (Abszisse). Ordinate: Kontraktionskraft in % der Ausgangslage (Ausgangslage = 100 %) = Kraft am Ende der Äquilibrationsperiode: 30 min in Tyrodelösung (o) bzw. 30 min in Tyrodelösung gefolgt von 15 min in Tyrodelösung mit 10^{-6} M Propranolol (●). Ausgangslagen (g/mm^2): $0,405 \pm 0,103$ (o) ; $0,700 \pm 0,197$ (●) N = je 5.

die Kontraktionskraft beeinflusst, wurden 5 Papillarmuskeln in Abwesenheit von Propranolol über die Dauer eines Versuchs (105 min) in Tyrodelösung äquilibriert, die in 15-minütigen Abständen gewechselt wurde; in gleicher Weise verfuhr man mit 5 anderen Papillarmuskeln, die in Tyrodelösung plus 10^{-6} M Propranolol-lösung äquilibriert wurden, die ebenfalls im Abstand von 15 min erneuert wurde.

In beiden Serien nahm die Kontraktionskraft in gleicher Weise bis zum Ende der Versuchszeit um etwa 20 % der Ausgangslage ab; ein Einfluß von Propranolol auf die Kontraktionskraft während der Versuchsdauer lag also ebenfalls nicht vor (Abb. 2).

2.5 Statistische Bearbeitung

2.5.1 Datenbeschreibung

In allen vier Versuchsserien wurden für die berücksichtigten Meßparameter und Wirkstoffkonzentrationen die arithmetischen Mittel und deren Standardfehler berechnet. Die bei Verbinden benachbarter Punkte durch Streckenzüge erhaltenen Durchschnittsprofile sind in den Abbildungen 3 bis 7 dargestellt, wobei die errechneten Streuungen der einzelnen Mittelwerte durch Intervalle entsprechender Länge veranschaulicht werden.

2.5.2 Statistische Analyse

Um zu überprüfen, ob die zwischen Paaren einander entsprechender Profile beziehungsweise zwischen den einzelnen Punkten ein und desselben Durchschnittsprofiles gefundenen Unterschiede größer sind, als auf Grund "zufälliger", durch die Auswahl von Stichproben begrenzten Umfanges bedingter Gegebenheiten erwartet werden kann, und d. h. als statistisch signifikant angesehen werden dürfen, benutzen wir die von Morrison (1967; Chapt. 4.7) beschriebene Methode der "Profilanalyse für zwei unabhängige Gruppen". Mit Hilfe dieses Testverfahrens, das vereinfacht gesagt, als eine multivariate Verallgemeinerung des häufig sogenannten "Studentischen t-Test" zu betrachten ist, prüften wir für jeden Meßparameter und für jede der benutzten Substanzen die folgenden Hypothesen:

- (1) Die Konzentrations-Wirkungs-Profile mit und ohne Anwesenheit von Propranolol verlaufen parallel.
- (2) Die Konzentrations-Wirkungs-Profile mit und ohne Anwesenheit von Propranolol sind punktweise identisch.

(3a) Die zu verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen in den Versuchen ohne Propranolol gehörenden Erwartungswerte (theoretischen Mittelwerte) sind sämtlich identisch.

(3b) Die zu verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen in den Versuchen mit Propranolol gehörenden Erwartungswerte (theoretischen Mittelwerte) sind sämtlich identisch.

Da die zweite Hypothese offenbar die erste impliziert, wurde jene nur in den Fällen getestet, wo die Prüfung der Parallelitätshypothese deren Annahme ergeben hatte. Bei Annahme einer der ersten beiden Hypothesen wurde die Untersuchung auf Dosiseffekte für die die Versuche mit und ohne Propranololzusatz charakterisierenden Meßwertprofile gemeinsam durchgeführt. Die bei dem hier verwendeten statistischen Testverfahren benötigte Prüfstatistik ist die sogenannte Hotellingsche T^2 -Statistik, zu der sich eine einfache lineare Funktion angeben läßt, welche bei Zutreffen der jeweiligen Hypothese einer F-Verteilung mit entsprechend zu wählenden Parametern folgt, sodaß sich die gesuchte Irrtumswahrscheinlichkeit bei Kenntnis des Wertes der Prüfgröße unmittelbar aus einer geeigneten Tabelle (vgl. etwa Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage, S. 40 ff.) ablesen läßt. Bei der Darstellung der Resultate der nach dem skizzierten Verfahren durchgeführten statistischen Analyse unserer Beobachtungsdaten werden Abweichungen von den bei Gültigkeit der jeweils unter Betracht stehenden Hypothese zu erwartenden Meßwertverteilungen dann als "signifikant" bezeichnet, wenn sich im Signifikanztest eine Irrtumswahrscheinlichkeit von höchstens 0,025 (2,5 %) ergeben hat.

3. Ergebnisse

3.1 Charakterisierung der Adrenalinwirkung sowie der Wirkung von Propranolol auf den Adrenalineffekt

Der Einfluß von Adrenalin auf den Kontraktionsablauf sowie der Einfluß von Propranolol (10^{-6} M) auf die Konzentrationswirkungskurve von Adrenalin wurde in einem Konzentrationsbereich von 3×10^{-8} bis 10^{-5} M Adrenalin untersucht. Die Ergebnisse dieser Versuche sind im linken Teil der Abbildungen 3 bis 7 (offene Symbole: ohne Propranolol; geschlossene Symbole: mit Propranolol), die Ergebnisse der statistischen Analyse in Tabelle 4 dargestellt.

Die statistische Analyse ergab bei den Parametern Kraft, Anstiegszeit, Anstiegsgeschwindigkeit und Erschlaffungsgeschwindigkeit eine Ablehnung sämtlicher Hypothesen. Bei der Erschlaffungszeit mußte die Hypothese 3a angenommen und die Hypothese 1 und 3b abgelehnt werden. Im einzelnen lassen sich die mit Adrenalin bzw. mit Adrenalin plus Propranolol erhobenen Befunde folgendermaßen beschreiben.

Adrenalin führte zu einer Zunahme der Kontraktionskraft (Abb. 3), die bei 3×10^{-8} M begann und bei 10^{-5} M maximal war. Diese Wirkung ging einher mit einer Zunahme der Anstiegsgeschwindigkeit (Abb. 4). Auch die Erschlaffungsgeschwindigkeit wurde durch Adrenalin konzentrationsabhängig erhöht (Abb. 6). In Anwesenheit von Propranolol verstärkte Adrenalin die gesamten Parameter ebenfalls; die Adrenalinwirkung war unter diesen Bedingungen jedoch schwächer. Propranolol führte also zu einer Hemmung, aber nicht zu einer Aufhebung der Adrenalinwirkung.

Die Anstiegszeit (Abb. 5) wurde durch Adrenalin verkürzt. Auch diese Wirkung des Adrenalins wurde durch Propranolol antagonistisch beeinflusst. In Anwesenheit von Propranolol kam es unter dem Einfluß von Adrenalin sogar zu einer Verlängerung der Anstiegszeit. Bei der Anstiegszeit führte Propranolol also nicht nur zu einer Aufhebung, sondern sogar zu einer Umkehr der Adrenalinwirkung. Die Verlängerung der Anstiegszeit beruht möglicherweise auf einer Wirkung von Adrenalin auf die adrenergen Alpha-Rezeptoren, die durch Propranolol nicht aufgehoben, sondern im Gegenteil erst sichtbar gemacht wird.

Die Erschlaffungszeit (Abb. 7) wurde durch Adrenalin allein nicht beeinflusst und in Anwesenheit von Propranolol durch Adrenalin verlängert. Danach ist nicht verwunderlich, daß die Wirkungsprofile

Adrenalin und Adrenalin plus Propranolol nicht parallel verlaufen (Ablehnung der Hypothese 1). Dieser Befund ist jedoch nicht als Aufhebung einer (nicht nachweisbaren) Adrenalinwirkung, sondern wie bei der Anstiegszeit eher als Demaskierung einer unter Normalbedingungen nicht sichtbaren alpha-adrenergen Adrenalinwirkung zu denken. Sämtliche Effekte von Adrenalin (ohne und mit Propranolol) waren reversibel.

Parameter	geprüfte Hypothesen	Stichprobenumfang	Zahl der Beobacht. pro Präparat	Wert der Teststatistik	Zahl der Freiheitsgrade ($\nu_1; \nu_2$)	Nächstgelegenes Quantil der tabellierten $F(\nu_1; \nu_2)$ - Verteil.	Irrtumswahrscheinlichkeit
Kraft	Hypothese (1)	$N_1=18; N_2=24$	7	5,219	6 ; 35	3,71	0,005 s.
	Hypothese (3a)	$N_1 = 18$	7	42,496	6 ; 12	5,76	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_2 = 24$	7	43,721	6 ; 18	4,66	0,005 s.
Anstiegszeit	Hypothese (1)	$N_1=18; N_2=24$	7	10,007	6 ; 35	3,71	0,005 s.
	Hypothese (3a)	$N_1 = 18$	7	25,219	6 ; 12	5,76	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_2 = 24$	7	10,039	6 ; 18	4,66	0,005 s.
Anstiegsgeschwindigkeit	Hypothese (1)	$N_1=18; N_2=24$	7	16,280	6 ; 35	3,71	0,005 s.
	Hypothese (3a)	$N_1 = 18$	7	37,053	6 ; 12	5,76	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_2 = 24$	7	30,500	6 ; 18	4,66	0,005 s.
Erschlafungszeit	Hypothese (1)	$N_1=18; N_2=24$	7	3,279	6 ; 35	2,87	0,025 s.
	Hypothese (3a)	$N_1 = 18$	7	2,641	6 ; 12	3,00	0,05 n.s.
	Hypothese (3b)	$N_2 = 24$	7	12,357	6 ; 18	4,66	0,005 s.
Erschlafungsgeschwindigkeit	Hypothese (1)	$N_1=18; N_2=24$	7	3,271	6 ; 35	2,87	0,025 s.
	Hypothese (3a)	$N_1 = 18$	7	16,056	6 ; 12	5,76	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_2 = 24$	7	15,417	6 ; 13	4,66	0,005 s.

Tabelle 4 Zusammenstellung der Ergebnisse der statistischen Analyse für die Adrenalinversuche

n. s. = nicht signifikant; s. = signifikant

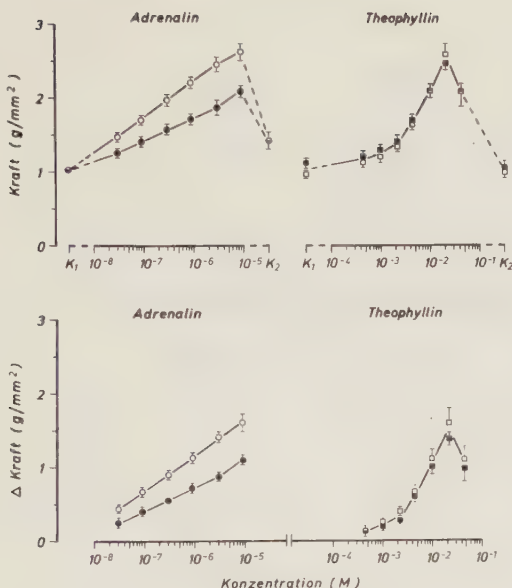


Abb. 3:

Wirkung von Adrenalin ($3 \times 10^{-8} - 10^{-5}$ M; links) und Theophyllin ($4,5 \times 10^{-4} - 4,5 \times 10^{-2}$ M; rechts) auf die Kontraktionskraft elektrisch gereizter Katzenpapillarmuskeln in Abwesenheit (offene Symbole, o = Adrenalin; □ = Theophyllin) und in Anwesenheit (ausgefüllte Symbole, o = Adrenalin + Propranolol; ■ = Theophyllin + Propranolol) von 10^{-6} M Propranolol.

Obere Ordinate: Kontraktionskraft in g/mm² unmittelbar vor Zugabe von Adrenalin und Theophyllin (Kontrolle 1 = K₁), während der Einwirkung sowie 30 min nach Ausspülen von Adrenalin oder Theophyllin (Kontrolle 2 = K₂).

Untere Ordinate: Zunahme der Kontraktionskraft in Gegenwart von Adrenalin oder Theophyllin gegenüber der Kontrolle K₁.

Abszissen (log. Maßstab): Konzentrationen (M) von Adrenalin bzw. Theophyllin.

N: 18 (o; 13 bei 10^{-5} M); 15 (□); 24 (●); 23 (■).

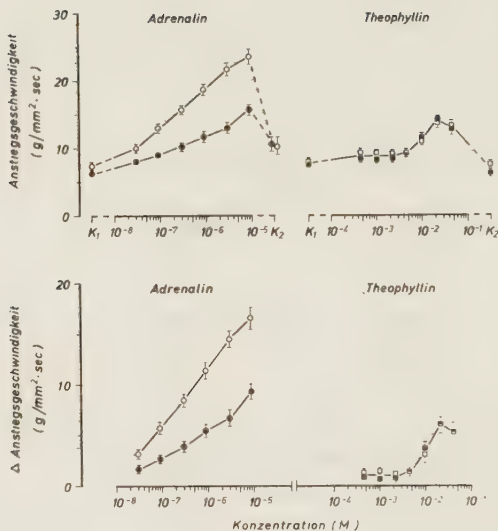


Abb. 4:

Wirkung von Adrenalin (links) und Theophyllin (rechts) auf die maximale Anstiegsgeschwindigkeit der Kontraktion von elektrisch gereizten Katzenpapillarmuskeln in Abwesenheit (offene Symbole) und in Anwesenheit (ausgefüllte Symbole) von 10^{-6} M Propranolol. Obere Ordinate: Maximale Anstiegsgeschwindigkeit in g/mm² x sec vor Zugabe von Adrenalin oder Theophyllin (K₁), während der Einwirkung sowie 30 min nach Ausspülen von Adrenalin oder Theophyllin (K₂).

Untere Ordinate: Änderung der maximalen Anstiegsgeschwindigkeit in Gegenwart von Adrenalin oder Theophyllin gegenüber der Kontrolle K₁. Gleiche Versuche, Symbole und Abszissen wie in Abb. 3.

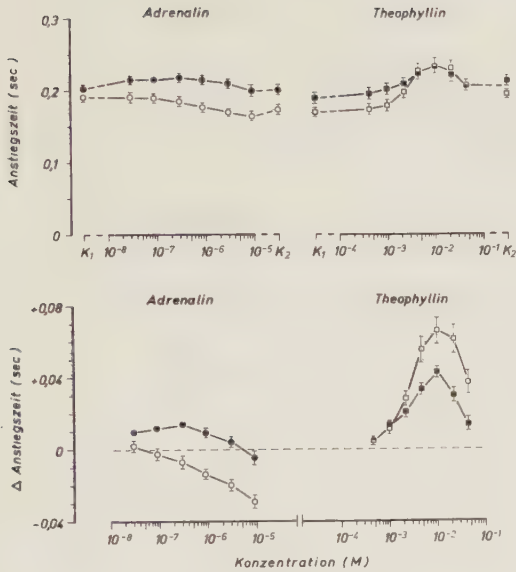


Abb. 5:

Wirkung von Adrenalin (links) und Theophyllin (rechts) auf die Anstiegszeit der Kontraktion von elektrisch gereizten Katzenpapillarmuskeln in Abwesenheit (offene Symbole) und in Anwesenheit (ausgefüllte Symbole) von 10^{-6} M Propranolol.

Obere Ordinate: Anstiegszeit in sec vor Zugabe von Adrenalin oder Theophyllin (K_1), während der Einwirkung sowie 30 min nach Ausspülen von Adrenalin oder Theophyllin (K_2).

Untere Ordinate: Änderung der Anstiegszeit in Gegenwart von Adrenalin oder Theophyllin gegenüber der Kontrolle K_1 .

Gleiche Versuche, Symbole und Abszissen wie in Abb. 3.

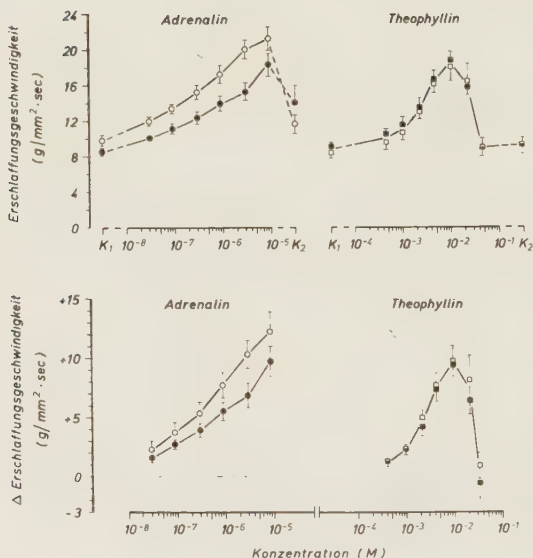


Abb. 6:

Wirkung von Adrenalin (links) und Theophyllin (rechts) auf die maximale Erschlaffungsgeschwindigkeit der Kontraktion von elektrisch gereizten Katzenpapillarmuskeln in Abwesenheit (offene Symbole) und in Anwesenheit (ausgefüllte Symbole) von 10⁻⁶ M Propranolol.

Obere Ordinate: Maximale Erschlaffungsgeschwindigkeit in g/mm² x sec vor Zugabe von Adrenalin oder Theophyllin (K₁), während der Einwirkung sowie 30 min nach Ausspülen von Adrenalin oder Theophyllin (K₂).

Untere Ordinate: Änderung der maximalen Erschlaffungsge-
schwindigkeit in Gegenwart von Adrenalin oder Theophyllin gegen-
über der Kontrolle K₁. Gleiche Versuche, Symbole und Abszissen
wie in Abb. 3.

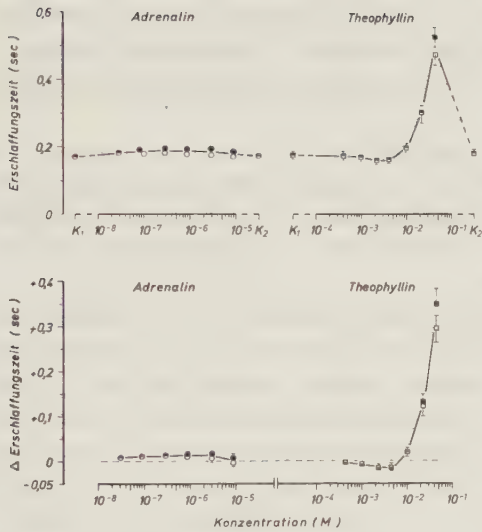


Abb. 7:

Wirkung von Adrenalin (links) und Theophyllin (rechts) auf die Erschlaffungszeit der Kontraktion von elektrisch gereizten Katzenpapillarmuskeln in Abwesenheit (offene Symbole) und in Anwesenheit (ausgefüllte Symbole) von 10^{-6} M Propranolol. Obere Ordinate: Erschlaffungszeit in sec vor Zugabe von Adrenalin oder Theophyllin (K_1), während der Einwirkung sowie 30 min nach Ausspülen von Adrenalin oder Theophyllin (K_2). Untere Ordinate: Änderung der Erschlaffungszeit in Gegenwart von Adrenalin oder Theophyllin gegenüber der Kontrolle K_1 . Gleiche Versuche, Symbole und Abszissen wie in Abb. 3.

3.2 Charakterisierung der Theophyllinwirkung sowie der Wirkung von Propranolol auf den Theophyllineffekt

Der Einfluß von Theophyllin auf den Kontraktionsablauf sowie der Einfluß von Propranolol (10^{-6} M) auf die Konzentrationswirkungskurve von Theophyllin wurde in einem Konzentrationsbereich von $4,5 \times 10^{-4}$ bis $4,5 \times 10^{-2}$ M Theophyllin untersucht. Die Ergebnisse dieser Versuche sind im rechten Teil der Abbildungen 3 bis 7 (offene Symbole: ohne Propranolol; geschlossene Symbole: mit Propranolol), die Ergebnisse der statistischen Analyse in Tabelle 5 dargestellt.

Die statistische Analyse ergab für sämtliche Parameter eine Annahme der Hypothesen 1 und 2 und eine Ablehnung der Hypothesen (3a und 3b). Im einzelnen lassen sich die mit Theophyllin bzw. mit Theophyllin plus Propranolol erhobenen Befunde folgendermaßen beschreiben.

Theophyllin führte zu einer Zunahme der Kontraktionskraft, die bei $4,5 \times 10^{-4}$ M begann und bei $2,2 \times 10^{-2}$ M maximal war (Abb. 3). Diese positiv inotrope Wirkung ging ab $4,5 \times 10^{-3}$ M mit einer Zunahme der Anstiegsgeschwindigkeit einher (Abb. 4). Auch die Erschlaffungsgeschwindigkeit wurde durch Theophyllin konzentrationsabhängig erhöht (Abb. 6). Bei $4,5 \times 10^{-2}$ M nahmen die Parameter Kraft, Anstiegs- und Erschlaffungsgeschwindigkeit im Vergleich zur maximal wirksamen Konzentration wieder etwas ab. Schließlich kam es unter dem Einfluß von Theophyllin zu einer Zunahme der Anstiegszeit (Abb. 5) wie auch der Erschlaffungszeit (Abb. 7) der Kontraktion. Während die Anstiegszeit ab 10^{-2} M gegenüber der maximal wirksamen Konzentrationen wieder etwas abnahm, war gerade in diesem Konzentrationsbereich die Zunahme der Erschlaffungszeit am deutlichsten. Häufig war hier bei den höchsten Theophyllinkonzentrationen ein Kontraktionsnachschatz zu beobachten, wie er auch von Blinks et al. (1972) beschrieben wurde, der bei $4,5 \times 10^{-2}$ M maximal war und letztlich zu der starken Verlängerung der Erschlaffungszeit führte. Die Zunahme der Erschlaffungszeit war im Vergleich zur Zunahme der Anstiegszeit etwa um das 5 bis 6-fache größer. Der Theophyllineffekt auf sämtliche Parameter war statistisch signifikant. Ein Einfluß von Propranolol auf den Theophyllineffekt konnte bei keinem Parameter festgestellt werden, die Profile von Theophyllin bzw. von Theophyllin plus Propranolol erwiesen sich als statistisch identisch (Annahme der Hypothesen 1 und 2). Sämtliche Effekte von Theophyllin (ohne und mit Propranolol) waren reversibel.

Parameter	geprüfte Hypothesen	Stichprobenumfang	Zahl der Beobacht. pro Präparat	Wert der Teststatistik	Zahl der Freiheitsgrade ($\nu_1; \nu_2$)	Nächstgelegenes Quantil der tabell. $F(\nu_1; \nu_2)$ - Verteil.	Irrtumswahrscheinlichkeit
Kraft	Hypothese (1)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,038	8 ; 29	1,89	0,1 n. s.
	Hypothese (2)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,339	9 ; 28	1,87	0,1 n. s.
	Hypothese (3a)	$N_1 + N_2 = 38$	9	33,485	8 ; 29	3,61	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_1 + N_2 = 38$	9				
Anstiegszeit	Hypothese (1)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,875	8 ; 29	1,89	0,1 n. s.
	Hypothese (2)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,773	9 ; 28	1,87	0,1 n. s.
	Hypothese (3a)	$N_1 + N_2 = 38$	9	21,825	8 ; 29	3,61	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_1 + N_2 = 38$	9				
Anstiegsschwindigkeit	Hypothese (1)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,719	8 ; 29	1,89	0,1 n. s.
	Hypothese (2)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,523	9 ; 28	1,87	0,1 n. s.
	Hypothese (3a)	$N_1 + N_2 = 38$	9	20,458	8 ; 29	3,61	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_1 + N_2 = 38$	9				
Erschlefun- gszeit	Hypothese (1)	$N_1=15; N_2=23$	9	0,617	8 ; 29	1,89	0,1 n. s.
	Hypothese (2)	$N_1=15; N_2=23$	9	0,565	9 ; 28	1,87	0,1 n. s.
	Hypothese (3a)	$N_1 + N_2 = 38$	9	40,703	8 ; 29	3,61	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_1 + N_2 = 38$	9				
Erschlaf- ungsschwindigkeit	Hypothese (1)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,095	8 ; 29	1,89	0,1 n. s.
	Hypothese (2)	$N_1=15; N_2=23$	9	1,238	9 ; 28	1,87	0,1 n. s.
	Hypothese (3a)	$N_1 + N_2 = 38$	9	16,949	8 ; 29	3,61	0,005 s.
	Hypothese (3b)	$N_1 + N_2 = 38$	9				

Tabelle 5 Zusammenstellung der Ergebnisse der statistischen Analyse für die Theophyllinversuche

n. s. = nicht signifikant; s. = signifikant

4. Diskussion

4.1 Vergleich der Wirkung von Adrenalin und Theophyllin

Die Untersuchungen haben ergeben, daß beide Substanzen am Katzenpapillarmuskel etwa gleich stark positiv inotrop wirken. Die Theophyllinkonzentrationen lagen dabei in einem etwa 2000-fach höheren Bereich als die Adrenalinkonzentrationen. Die Wirkung von Adrenalin auf die Kontraktionskraft war einphasisch, d. h., die Konzentrationswirkungskurve zeigte einen linearen Verlauf. Die Theophyllinwirkung dagegen war zweiphasisch. In der ersten Phase bis zu einer Konzentration von $2,2 \times 10^{-2}$ M kam es zu einer steten Zunahme der Kontraktionskraft. In der zweiten Phase bei $4,5 \times 10^{-2}$ M nahm der positiv inotrope Effekt wieder ab, der Verlauf der Konzentrationswirkungskurve war bei Theophyllin also glockenförmig. Die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin ging mit einer Zunahme der Anstiegsgeschwindigkeit unter gleichzeitiger Abnahme der Anstiegszeit einher. Unter der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin kam es dagegen zu einer Verlängerung der Anstiegszeit und ab $4,5 \times 10^{-3}$ M nahm auch die Anstiegsgeschwindigkeit zu. Nicht nur die Anstiegszeit, sondern auch die Erschlaffungszeit wurde durch Adrenalin und Theophyllin unterschiedlich beeinflusst. Adrenalin hatte auf die Erschlaffungszeit keinen Einfluß, wohingegen es unter Theophyllin zu einer starken Zunahme der Erschlaffungszeit kam.

4.2 Einfluß von Propranolol auf die Adrenalin- und Theophyllinwirkung

Die Adrenalinwirkung wurde durch Propranolol in allen von Adrenalin beeinflussten Parametern signifikant vermindert; dieser Befund bestätigt die Richtigkeit unserer Versuchsanordnung. Dies ist von Bedeutung, weil ein Einfluß von Propranolol auf die Theophyllinwirkung bei keinem der untersuchten Parameter nachgewiesen werden konnte. Diese mit Theophyllin erhobenen Befunde stimmen mit denen von Kukovetz und Pösch (1967) und Blinks et al. (1972) überein, die auch keinen Einfluß von Beta-Blockern auf die Methylxanthinwirkung feststellen konnten; sie widersprechen aber den von Marcus et al. (1972) auch an Katzenpapillarmuskeln erhobenen Befunden. Diese Autoren fanden eine Minderung der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin durch Propranolol. Worauf lassen sich diese unterschiedlichen Versuchsergebnisse vielleicht zurückführen?

Die Temperatur unserer Badlösungen lag bei 35°C , die bei Marcus et al. um 30°C . Blinks et al. (1972) konnten jedoch nachweisen, daß Änderungen in einem Temperaturbereich von $32,5^{\circ}\text{C}$ bis zu 38°C keinen Einfluß auf die Methylxanthinwirkung an Katzenpapillarmuskeln ausübten, so daß der Temperaturunterschied wahrscheinlich nicht als Ursache angesehen werden kann. Ein anderer Ansatzpunkt für die unterschiedlichen Ergebnisse wäre vielleicht in den Muskelquerschnitten zu suchen. Der Mittelwert der Muskelquerschnitte bei Marcus et al. lag bei $1,0\text{ mm}^2$, in dieser Arbeit aber bei $0,66\text{ mm}^2$. Es gibt zwar keine Mitteilungen darüber, daß der positiv inotrope Effekt einer Substanz durch die Dicke der Papillarmuskeln beeinflusst wird, Koch-Weser (1963) aber konnte feststellen, daß bei Muskelquerschnitten über $0,6\text{ mm}^2$ eine ausreichende Sauerstoffdiffusion aus der Badlösung in das Innere der Muskeln nicht immer sicher gewährleistet ist. Man könnte daraus den spekulativen Schluß ziehen, daß bei einigen der von Marcus et al. verwendeten Papillarmuskeln (verschiedene Präparate mit und ohne Propranolol) die Minderung des positiv inotropen Effektes von Theophyllin nicht durch den Beta-Blocker selbst, sondern durch eine unzureichende Sauerstoffversorgung der Muskeln verursacht worden ist; lag doch der Muskelquerschnitt der größten Papillarmuskeln, die in der Arbeit Verwendung fanden, bei $1,5\text{ mm}^2$.

Der Widerspruch zu den Ergebnissen von Marcus et al. kann letztlich nicht sicher erklärt werden. Unsere Versuchsergebnisse sprechen aber dafür, daß die positiv inotrope Wirkung von Theophyllin durch Propranolol nicht vermindert wird.

Auch Versuche anderer Autoren, zum Beispiel von Westphal und Fleming (1968) oder Strubelt (1969) ergaben eine Minderung der Methylxanthinwirkung durch Beta-Blocker oder nach Reserpinvorbehandlung. Hier wurde jedoch ausschließlich an in vivo Präparaten gearbeitet, von denen man weiß, daß Theophyllin in der Lage ist, endogene Katecholaminspeicher zu entleeren (de Schaepdryver, 1959; Kiefer, 1964; Levi, 1967; Atuk et al., 1967). Bei den in vivo Präparaten ist also ein Teil der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin durch Katecholamine bedingt und kann deshalb auch von Beta-Blockern vermindert werden. Diese Ergebnisse stehen also nicht im Widerspruch zu den in dieser Arbeit an in vitro Präparaten erhobenen Befunde.

4.3 Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Adrenalin und Theophyllin

Die in dieser Arbeit erhobenen Befunde, wie die in der Literatur bekannten Tatsachen über die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin und Theophyllin, lassen in der Tat viele Gemeinsamkeiten auf den Kontraktionsablauf erkennen. Beide Substanzen wirkten in den verwendeten Konzentrationsbereichen etwa gleich stark positiv inotrop. Der Wirkungseintritt begann bei beiden sofort nach Substanzzugabe. Anstiegs- und Erschlaffungsgeschwindigkeit wurden durch Adrenalin wie durch Theophyllin gesteigert. Reiter und Schöber (1965) sowie Scholz und de Yazikof (1971) fanden, daß die Effekte von Adrenalin und Theophyllin auf die Kontraktionskraft unabhängig von Änderungen der extrazellulären Na^+ - und K^+ - Konzentrationen sind. Eine Steigerung der extrazellulären Ca^{++} - Konzentration führte für beide Substanzen zu einer Verschiebung der Konzentrationswirkungskurve nach links (Reiter und Schöber, 1965; Scholz und de Yazikof, 1971). Außerdem steigerten Adrenalin und Theophyllin Ca^{++} - Influx und Ca^{++} - Efflux während des Erregungsprozesses (Nayler, 1963; Grossmann and Furchgott, 1964; Reuter, 1965; Reuter und Wollert, 1967; Guthrie und Nayler, 1967; Scholz, 1971). Schließlich minderten Mn^{++} - Ionen, die den Ca^{++} - Einstrom während der Erregung hemmen (Rougier et al., 1969), die positiv inotrope Wirkung von Theophyllin und Adrenalin (Meinertz und Scholz, 1969).

Andererseits gibt es einige Unterschiede in der Einflußnahme beider Substanzen auf den Kontraktionsablauf. So verkürzt Adrenalin bei gleicher Erschlaffungszeit die Anstiegszeit; Theophyllin dagegen verlängert Anstiegs- wie Erschlaffungszeit der Kontraktion. Hinzu kommt die unterschiedliche Beeinflußbarkeit der positiv inotropen Wirkung beider Substanzen durch Propranolol. Die Adrenalinwirkung wurde durch Propranolol abgeschwächt, wohingegen ein Einfluß des Propranolols auf die Theophyllinwirkung nicht nachzuweisen war. Diese Unterschiede beider Substanzen sprechen dafür, daß sie sich in einzelnen Teilen ihrer Ansatzpunkte unterscheiden. Es ergeben sich folgende Möglichkeiten Ähnlichkeiten und Unterschiede zu erklären. Ähnlichkeiten in ihren Effekten auf den Kontraktionsablauf lassen vermuten, daß beide Substanzen über ein gemeinsames Stoffwechselprodukt, dem c-AMP, positiv inotrop wirken. Katecholamine aktivieren die Adenylcyclase (Sutherland and Robison, 1966), die für die Bildung von c-AMP aus ATP verantwortlich ist, während Theophyllin, ein Phosphodiesteraseinhibitor (Butcher and Sutherland, 1962), einmal gebildetes c-AMP vor dem

Abbau durch die Phosphodiesterase schützen kann. Beide Substanzen können also letztlich zu einer Erhöhung der intrazellulären Konzentration an c-AMP führen. Daß die intrazelluläre Konzentration von c-AMP etwas mit dem positiv inotropen Effekt zu tun haben könnte, zeigten Rall und West (1963), die eine Verstärkung des positiv inotropen Effektes von Noradrenalin durch Aminophyllin fanden. Kukovetz et al. (1973) konnten nachweisen, daß durch Imidazol, einen Phosphodiesteraseaktivator (Butcher and Sutherland, 1962), der positiv inotrope Effekt von Noradrenalin geblockt wurde. Da c-AMP durch eine erhöhte Phosphodiesteraseaktivität schneller abgebaut werden kann und somit seine intrazelluläre Konzentration sinkt, spricht dieses Ergebnis ebenfalls für die Mittlerrolle des c-AMP beim Zustandekommen des positiv inotropen Effektes. Einige Autoren wie Robison et al. (1965),

Drummond et al. (1966), Wastila et al. (1972) und Kukovetz et al. (1973) konnten feststellen, daß der Anstieg der c-AMP Konzentration im Herzen proportional dem positiv inotropen Effekt von Katecholaminen und mit diesem zeitlich eng gekoppelt war. Wenn c-AMP ein Mittler des positiv inotropen Effektes von Adrenalin und Theophyllin sein soll, mußte weiterhin gefordert werden, daß es selbst positiv inotrop wirkt und während der Erregung die intrazelluläre Konzentration an freien Ca^{++} - Ionen erhöht, wie es für den positiv inotropen Effekt von Adrenalin und Theophyllin wahrscheinlich gemacht werden konnte (Nayler, 1963; Grossman and Furchgott, 1964; Reuter, 1965; Guthrie and Nayler, 1967; Nayler, 1967; Reuter und Wollert, 1967; Scholz und Reuter, 1968; Scholz, 1971). Der positiv inotrope Effekt konnte für DB-AMP, einem Derivat des c-AMP, das in dieser Form lipidlöslicher ist als c-AMP und leichter in die Zelle eindringen kann, von Kukovetz und Pösch (1970), Skelton et al. (1970), Ahrén et al. (1971), Meinertz et al. (1972), Bertelli et al. (1972), Drummond und Hemmings (1972) und Meinertz et al. (1974) in konzentrationsabhängiger Weise nachgewiesen werden. Außerdem erhöhte DB-AMP während der Erregung den Ca^{++} - Influx in die Zelle und zeigte auch hierin Ähnlichkeiten mit dem Adrenalineffekt (Meinertz et al., 1973).

Die Unterschiede von Adrenalin und Theophyllin in ihrer Wirkung auf den Kontraktionsablauf lassen sich am ehesten auf ihre verschiedenen Effekte auf das sarcoplasmatische Retikulum zurückführen. So bewirken Methylxanthine eine Freisetzung von Ca^{++} - Ionen aus dem SR und vermindern gleichzeitig ihre Wiederaufnahme (Weber and Herz, 1968). Dies bedingt, daß das SR eine längere

Zeit benötigt, die intrazelluläre Ca^{++} - Ionen-Konzentration unter den kritischen Wert von 10^{-7} M, die für die Auslösung der Kontraktion benötigt wird (Hasselbach und Weber, 1965; Langer, 1968), zu senken, was letztlich eine Verlängerung der Erschlaffungszeit der Kontraktion bedeutet. Katecholamine steigern dagegen die Wiederaufnahme der Ca^{++} - Ionen in das sarcoplasmatische Retikulum (Entmann et al., 1969; Shinebourne et al., 1969). Dies könnte zu der unter dem Einfluß der Katecholamine zu beobachtenden Verkürzung der Anstiegszeit führen. Adrenalin beeinflusst in dieser Arbeit die Erschlaffungszeit der Kontraktion nicht. Dies könnte damit erklärt werden, daß sich die durch Adrenalin bedingte Permeabilitätssteigerung des Sarcolemms für Ca^{++} - Ionen und der damit verstärkte Ca^{++} - Influx während der Erregung mit der gesteigerten Wiederaufnahme der Ca^{++} - Ionen aus dem Intrazellularraum in das SR die Waage halten. Blinks et al. (1972) konnten feststellen, daß die durch Isoproterenol bedingte Verkürzung des kontraktilen Zustands der Herzmuskelzelle schon in Anwesenheit kleinster Dosen Coffein vollständig verhindert wurde. Auch diese Beobachtung kann unter dem Aspekt der gegensätzlichen Wirkungen von Katecholaminen und Methylxanthinen auf das sarcoplasmatische Retikulum erklärt werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Theophyllin in vieler Hinsicht wie, aber nicht über Adrenalin wirkt, wie dies aus den mit Propranolol erhobenen Befunden hervorgeht. Dies spricht dafür, daß der Grundmechanismus bei beiden Substanzen sehr ähnlich ist und wahrscheinlich in einer Beeinflussung des c-AMP zu sehen ist. Die gegensätzliche Wirkung auf die Kontraktionszeit widersprechen dieser Deutung nicht. Sie lassen sich durch eine unterschiedliche Wirkung beider Substanzen auf den Ca^{++} - Transport durch das sarcoplasmatische Retikulum erklären, der mit der positiv inotropen Wirkung, die ja bei beiden Substanzen gleich stark war, nichts zu tun haben muß.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Propranolol auf die Wirkung von Adrenalin und Theophyllin am isolierten Katzenpapillarmuskel aus dem rechten Ventrikel untersucht. Die Papillarmuskeln wurden mit Rechteckimpulsen von 5 ms Dauer bei einer Frequenz von 0,2 Hz elektrisch gereizt. Die Versuchstemperatur betrug bei allen Versuchen 35° C.

Beide Substanzen wirkten in den geprüften Konzentrationsbereichen (Adrenalin 3×10^{-8} - 10^{-5} M; Theophyllin $4,5 \times 10^{-4}$ - $4,5 \times 10^{-2}$ M) etwa gleich stark positiv inotrop. Unter der Adrenalineinwirkung kam es zu einer Verkürzung der Anstiegszeit der Kontraktion und zu einer Zunahme der Anstiegs- und Erschlaffungsgeschwindigkeit. Die Erschlaffungszeit wurde durch Adrenalin nicht verändert. Theophyllin dagegen verlängerte Anstiegs- und Erschlaffungszeit der Kontraktion. Anstiegs- und Erschlaffungsgeschwindigkeit wurden durch Theophyllin gesteigert. Propranolol (10^{-6} M), das selbst keinen Einfluß auf den Kontraktionsablauf ausübte, minderte die Wirkung aller durch Adrenalin beeinflussten Parameter, während es auf die Wirkung von Theophyllin keinen Einfluß ausübte.

Die Versuchsergebnisse werden als ein Hinweis dafür gesehen, daß Theophyllin nicht über eine Freisetzung von endogenen Katecholaminen positiv inotrop wirkt.

6. Literaturverzeichnis

AHREN, K., A. HJALMARSON, O. ISAKSSON:

Inotropic and metabolic effects of dibutyryl cyclic adenosine 3',5'- monophosphate in the perfused rat heart.
Acta. physiol. scand. 82, 79-96 (1971)

ATUK, N. O., M. C. BLAYDES, F. B. WESTERVELT, J. E. WOOD:

Effect of aminophylline on urinary excretion of epinephrine and norepinephrine in man.
Circulation 35, 745-753 (1967)

BERTELLI, A., C. BIANCHI, L. BEANI:

Effect of AMP and cyclic ATP on the mechanical and electrical activity of isolated mammalian atria.
Europ. J. Pharmacol. 19, 130-133 (1972)

BLINKS, J. R., C. B. OLSON, B. R. JEWELL, P. BRAVENY:

Influence of caffeine and other methylxanthines on mechanical properties of isolated mammalian heart muscle.
Circulat. Res. 30, 367-392 (1972)

BUTCHER, R. W., E. W. SUTHERLAND:

Adenosine 3',5'- phosphate in biological materials.
J. biol. Chem. 237, 1244-1250 (1962)

DRUMMOND, G. J., L. DUNCAN, E. HERTZMAN:

Effect of epinephrine on phosphorylase b activity in perfused rat hearts.
J. biol. Chem. 241, 5899-5903 (1966)

DRUMMOND, G. J., S. J. HEMMINGS:

Inotropic and chronotropic effects of dibutyryl cyclic AMP.
In: Physiology and pharmacology of cyclic AMP.
Ed: P. Greegard, G. A. Robison and R. Paoletti. S. 307-316.
New York: Raven Press . 1972

ENTMAN, M. L., G. S. LEVEY, S. E. EPSTEIN:

Mechanism of action of epinephrine and glucagon on the canine heart.
Circulat. Res. 25, 429-436 (1969)

FURCHGOTT, R. F., T. de GUBAREFF, A. GROSSMANN:

Release of autonomic mediators in cardiac tissue by suprathreshold stimulation.

Science 129, 328-329 (1959)

GROSSMANN, A., R. F. FURCHGOTT:

The effects of various drugs on calcium on the isolated guinea-pig left auricle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 145, 162-172 (1964)

GUBAREFF, T. de, W. SLEATOR:

Effects of caffeine on mammalian atrial muscle and its interaction with adenosine and calcium.

J. Pharmacol. exp. Ther. 148, 202-214 (1965)

GUTHRIE, J. R., W. G. NAYLER:

Interaction between caffeine and adenosine on calcium exchangeability in mammalian atria.

Arch. int. Pharmacodyn, 170, 249-255 (1967)

HASSELBACH, W., A. WEBER:

Die intrazelluläre Regulation der Muskelaktivität.

Naturwissenschaften 52, 121-128 (1965)

KIEFER, G.:

Über den Einfluß von Pharmaka auf den Adrenalin- und Noradrenalinstoffwechsel.

Dissertation, Mainz 1964

KOCH-WESER, J.:

Effect of rate change on strength and time course of contraction of papillary muscle.

Amer. J. Physiol. 204, 451-457 (1963)

KUKOVETZ, W. R., G. PÖCH:

The action of imidazole on the effects of methylxanthines and catecholamines on cardiac contraction and phosphorylase activity.

J. Pharmacol. exp. Ther. 156, 514-521 (1967)

KUKOVETZ, W. R., G. PÖCH:

Cardiostimulatory effects of cyclic 3',5'- adenosine monophosphate and its acylated derivatives.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 266, 236-254 (1970)

KUKOVETZ, W. R., G. PÖCH, A. WURM:

Effect of catecholamines, histamine and oxyfedrine on isotonic contraction and cyclic AMP in the guinea-pig heart.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 278, 403-424 (1973)

LANGER, G. A.:

Ion fluxes in cardiac excitation and contraction and their relation to myocardial contractility.

Physiol.Rev. 48, 708-757 (1968)

LEVI, L.

The effect of coffee on the function of the sympathoadrenomedullary system in man.

Acta. med. scand. 181, 431-438 (1967)

MARCUS, M. L., C. L. SKELTON, L. E. GRAUER, S. E. EPSTEIN:

Effects of theophylline on myocardial mechanics.

Amer. J. Physiol. 6, 1361-1366 (1972)

MEINERTZ, T., H. SCHOLZ:

Über den Einfluß von Mangan-Ionen auf die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin, Theophyllin und Digitoxigenin an isolierten MeerschweinchenVorhöfen.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 265, 131-148 (1969)

MEINERTZ, T., H. NAWRATH, H. SCHOLZ:

Über die positiv inotrope Wirkung von Dibutyryl - 3',5'- AMP an isolierten Rattenvorhöfen.

Pflügers Arch. 333, 197-212 (1972)

MEINERTZ, T., H. NAWRATH, H. SCHOLZ:

Dibutyryl cyclic AMP and adrenaline increase contractile force and ⁴⁵Ca-uptake in mammalian cardiac muscle.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 277, 107-112 (1973)

MEINERTZ, T., H. NAWRATH, H. SCHOLZ, K. WINTER:

Effect of DB-c- AMP on mechanical characteristics of ventricular and atrial preparations of several mammalian species.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 282, 143-153 (1974)

MORAN, N. C., M. E. PERKINS:

Adrenergic blockade of the mammalian heart by a dichloro analogue of isoproterenol.

J. Pharmacol. exp. Ther. 124, 223-237 (1958)

MORRISON, D. F.:

Multivariate statistical methodes.

Mc Graw-Hill Book Company, New York 1967

NAYLER, W. G.:

The effect of caffeine on cardiac contractile activity and radiocalcium movement.

Amer. J. Physiol. 204, 969-974 (1963)

NAYLER, W. G.:

Calcium exchange in cardiac muscle.

Amer. Heart J. 73, 379-393 (1967)

RALL, T. W., T.C. WEST:

Potentiation of cardiac inotropic responses to norepinephrine by theophylline.

J. Pharmacol. exp. Ther. 139, 269-274 (1963)

REITER, M., H. G. SCHÖBER:

Die positiv inotrope Adrenalinwirkung auf den Meerschweinchenpapillarmuskel bei Variation der äußeren Calcium- und Natriumkonzentration.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 250, 9-20 (1965)

REUTER, H.:

Über die Wirkung von Adrenalin auf den zellulären Ca-Umsatz des MeerschweinchenVorhofes.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 251, 401-412 (1965)

REUTER, H., U. WOLLERT:

Über die Wirkung verschiedener sympathomimetischer Amine auf Kontraktionskraft und ^{45}Ca -Aufnahme isolierter Meerschweinchen-vorhöfe.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 258, 288-296 (1967)

ROBISON, G. A., R. W. BUTCHER, I. ØYE, H. E. MORGAN, E. W. SUTHERLAND:
Effect of epinephrine on adenosine 3',5'- phosphate levels in the isolated perfused rat heart.

Mol. Pharmacol. 1, 168-177 (1965)

ROUGIER, O., G. VASSORT, Y. M. GARNIER, E. CORABOEUF:

Existence and role of a slow inward current during the frog action potential.

Pflügers Arch. 308, 91-110 (1969)

SCHAEFDRYVER, A. F. de:

Physio-pharmacological effects on suprarenal secretion.

Arch. int. Pharmacodyn. 119, 517-518 (1959)

SCHOLZ, H., H. REUTER:

Über die Beziehung zwischen Membranpotential und Kontraktion am Herzen unter dem Einfluß von Adrenalin.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 260, 196-197 (1968)

SCHOLZ, H., E. de YAZIKOF:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen. I. Einfluß der extrazellulären Ca -, Na - und K -Konzentration und von Reserpin.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 374-395 (1971)

SCHOLZ, H.:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen. II. Wirkung von Theophyllin auf Aufnahme und Abgabe von ^{45}Ca .

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 396-409 (1971)

SHINEBOURNE, E. A., M. L. HESS, R. J. WHITE, J. HAMER:

The effect of noradrenaline on the calcium uptake of the sarcoplasmic reticulum.

Cardiovasc. Res. 3, 113-117 (1969)

SKELTON, C. L., G. S. LEVEY, S. E. EPSTEIN:

Positive inotropic effects of dibutyryl cyclic adenosine 3',5'-monophosphate.

Circulat. Res. 26, 35-43 (1970)

SLEATOR, W., T. de GUBAREFF:

Effect of stimulus strength and frequency on contractions of isolated heart muscle.

Physiologist 1, 73 (1958)

STRUBELT, O:

Über die indirekt-sympatikomometische Wirkung der Methylxanthine.

In: Coffein und andere Methylxanthine.

Ed: F. Heim u. H. P. T. Ammon, S. 121-128.

Stuttgart-New York: Schattauer Verlag 1969

SUTHERLAND, E. W., G. A. ROBISON:

Metabolic effects of catecholamines.

Pharmacol. Rev. 18, 145-161 (1966)

WASTILA, W. B., J. Y. SU, W. F. FRIEDMAN, S. E. MAYER:

Blockade of biochemical and physiological responses of cardiac muscle to norepinephrine by N-tert. butylmethoxamine (butoxamine).

J. Pharmacol. exp. Ther. 181, 126-138 (1972)

WEBER, A., R. HERZ:

The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum.

J. gen. Physiol. 52, 750-769 (1968)

WESTPHAL, D. P., W. FLEMING:

Sensitivity changes in the dog heart to norepinephrine, calcium aminophyllin resulting from pretreatment with reserpine.

J. Pharmacol. exp. Ther. 159, 98-106 (1968)

WHALEN, W. J.:

Apparent exception to the "All or None" law in cardiac muscle.
Science 127, 468-469 (1958)

Wissenschaftliche Tabellen, Documenta Geigy

7. Auflage, 2. Nachdruck

Wehr, 1973

Lebenslauf

Ich wurde am 6. 2. 1951 als Sohn des technischen Angestellten Willi Kasper und dessen Ehefrau Katharina geb. Gerhardt in Wörrstadt geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Wörrstadt wechselte ich in das staatliche Gymnasium nach Alzey über, wo ich 1969 mein Abitur bestand.

Im Wintersemester 1969 begann ich das Medizinstudium an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz. Im Sommersemester 1970 legte ich das Vorphysikum und im Wintersemester 1971/72 das Physikum ab.

Nach dem Wintersemester 1974/75 beabsichtige ich mein Staatsexamen in Medizin zu machen.



Frau H. Wessling und Fräulein B. Schmelzle danke ich für die Hilfen bei der praktischen Durchführung der Versuche und der Anfertigung der Abbildungen.

Für die statistische Beratung danke ich Herrn Dipl. Psych. S. Wellek.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dipl. Math. D. Müller für die Ausarbeitung eines Computerprogrammes zur Umrechnung der Meßergebnisse.



